

KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar

Zur Isolierung und Koloniezahlbestimmung von Enterokokken aus Wasser und Lebensmitteln.

KF-Streptococcus (Enterococcus)- Agar-Basis

Art.-Nr. CM 701

Typische Zusammensetzung	(g/l)
Proteose-Pepton	10,0
Hefeextrakt	10,0
Natriumchlorid	5,0
Natriumglycerophosphat	10,0
Maltose	20,0
Lactose	1,0
Natriumazid	0,4
Bromkresolpurpur	0,015
Agar	20,0
pH 7,2 ± 0,2	

Zubereitung

76,4 g KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar-Basis in 1 l Aqua dest. suspendieren und unter Rühren bis zum vollständigen Lösen erhitzen. 5 Minuten kochen und auf 50°C abkühlen. Zu 100 ml abgekühlter KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar-Basis aseptisch 1 ml 1%ige, sterile 2,3,5-Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung zugeben und gut mischen. Für das Membranfilter-Verfahren Platten gießen oder für das Gußplatten-Verfahren den Nährboden bei 45°C halten.

Alternativ kann der Nährboden 10 Minuten bei 121°C autoklaviert werden, allerdings sollte die Triphenyltetrazoliumchlorid-Lösung dann aseptisch nach dem Autoklavieren und Abkühlen auf 50°C zugefügt werden.

Beschreibung

KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar basiert auf der Zusammensetzung nach Kenner et al.¹ und wird zum Nachweis und zur Koloniezahlbestimmung von Enterokokken aus Faeces, Milch, Wasser und anderem Untersuchungsmaterial empfohlen^{2,3}. Das Auftreten von Enterokokken im Untersuchungsmaterial ist ein Indikator für fäkale Verunreinigungen durch Mensch oder Tier. KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar wirkt selektiv für die folgenden Spezies der Streptokokken-Lancefield-Gruppen D und Q:

- *E. faecalis* (Gruppe D)
- *E. faecalis* spp. *liquefaciens* (Gruppe D)
- *E. faecalis* spp. *zymogenes* (Gruppe D)
- *E. faecium* (Gruppe D)
- *E. bovis* (Gruppe D)
- *E. equinus* (Gruppe D)
- *S. avium* (Gruppe Q)

Streptococcus avium (Gruppe Q) wurde in die 'Enterokokken-Gruppe' aufgenommen, da der Keim biochemisch

Nährböden

und serologisch sehr ähnlich wie Spezies der Gruppe D reagiert und ebenfalls bei Warmblütern auftritt.

Der Nachweis von Enterokokken kann charakteristische Informationen über die Quelle einer Kontamination liefern, da bestimmte Enterokokken wirtsspezifisch sind. In Wasser würde z.B. ein Überwiegen von *E. bovis* und *E. equinus* auf eine Verunreinigung durch tierische Exkremente hinweisen. *E. bovis* und *E. equinus* sind im Zusammenhang mit Verunreinigungen bei fleischverarbeitenden Betrieben, bei Abwasser von Molkereien, Futtersilos und Farmen aufgetreten. Der Nachweis dieser Enterokokken weist auf eine nicht lange zurückliegende Verunreinigung hin, da diese Keime außerhalb ihrer natürlichen Umgebung nur kurze Zeit überleben können. Das Verhältnis coliformer Keime/Enterokokken kann Hinweise auf die Ursachen einer Kontaminationen geben².

Kulturverfahren

Membranfilter-Verfahren

1. KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar nach Vorschrift zubereiten.
2. Probe durch eine sterile Membran filtrieren; dabei das Volumen so wählen, daß sich etwa 20-200 Kolonien auf der Membranoberfläche bilden können. Dazu je nach Verunreinigungsgrad 100, 10, 1, 0,1 oder 0,01 ml verwenden.
3. Membran sofort luftblasenfrei auf den Nährboden legen.
4. Platten umdrehen und 48 Stunden bei 36°C bebrüten.
5. Unter einem Platten- bzw. Stereomikroskop mit 10-15facher Vergrößerung alle roten oder rosa Kolonien zählen.
6. Die Zahl der Enterokokken berechnen und als Anzahl je 100 ml ausdrücken.
7. Die Kolonien als Enterokokken bestätigen.

Gußplatten-Verfahren

1. KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar nach Vorschrift zubereiten.
2. Untersuchungsmaterial so verdünnen, daß etwa 30-300 Kolonien zu erwarten sind. Für die meisten Trinkwasserproben ist es für die Zählung ausreichend, 1 ml oder 0,1 ml der unverdünnten Probe und 1 ml der 1:100 verdünnten Probe einzusetzen.
3. Das ausgewählte Probenvolumen in eine sterile Petrischale pipettieren.
4. Je Platte 15 ml flüssigen KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar zugeben.
5. Nährboden und Probe mischen, um eine gleichmäßige Verteilung der Keime zu erreichen.
6. Den Nährboden nach dem Gießen so schnell wie möglich erstarren lassen, danach die Platten umdrehen.
7. 48 Stunden bei 36°C bebrüten.
8. Unter einem Platten- bzw. Stereomikroskop alle roten bis rosafarbenen Kolonien auf und im Nährboden zählen.
9. Die Zahl der Enterokokken berechnen und als Anzahl je 100 ml festhalten.
10. Die Kolonien als Enterokokken bestätigen¹. Für die Kolonien im Nährboden eine Impfnadel benutzen.

Mit dem Streptokokken-Identifizierungs-Test (Art.-Nr. DR 585) bzw. dem Dryspot Strep-Test (Art.-Nr. DR 400) kön-

nen Streptokokken der Lancefield-Gruppen A,B,C,D,F, und G identifiziert werden. Die Gruppenreagenzien dieses Tests sind auch einzeln erhältlich.

Koloniemorphologie

Enterokokken-Kolonien auf dem Membranfilter oder auf der Oberfläche bzw. im Nährboden sind rot oder rosa gefärbt und unterschiedlich groß (Ø 0,3-2 mm). Die Kolonien sollten z.B. unter einem Platten- bzw. Stereomikroskop mit 10-15facher Vergrößerung gezählt werden.

Lagerung und Haltbarkeit

Trockennährboden:

Fest verschlossen, lichtgeschützt, 10-25°C.

Haltbarkeit: siehe Etikett.

Qualitätskontrolle

Positivkontrolle

Enterococcus faecalis ATCC 29212

Negativkontrolle

Escherichia coli ATCC 25922

Zusätzliche Hinweise

Dieses Produkt enthält weniger als 1% Azid und weist eine geringe Toxizität auf; siehe auch 'Allgemeine Richtlinien zur Verwendung von OXOID Trockennährböden'. Der pH-Wert des Nährbodens sollte 7,0 nicht unterschreiten, da er sonst auf das Wachstum von Enterokokken hemmend wirken kann³.

KF-Streptococcus (Enterococcus)-Agar ist nicht spezifisch für die vorläufige Identifizierung von Streptokokken der Gruppe D. Die Identität der Isolate muß durch weitere Untersuchungen bestätigt werden.

Literatur

1. Kenner, B.A., Clark, H.F. und Kabler, P.W. (1961) J. Appl. Microbiol. 9, 15-20.
2. APHA, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation (1981) "Standard methods for the examination of water and wastewater". 15th Edn., Washington, D.C.
3. APHA (1984) "Compendium methods for the microbiological examination of foods". 2nd Edn., Washington, D.C.